

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - UFPR
UNIVERSIDADE REGIONAL DE BLUMENAU - FURB**

SEBASTIÃO JOSÉ WESTPHAL

**ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS PRECOSES APÓS
TORÇÃO DO CORDÃO ESPERMÁTICO EM RATOS
WISTAR.**

Dissertação apresentada ao Programa de
Mestrado Interinstitucional em Clínica
Cirúrgica da UFPR e FURB como requisito
parcial para obtenção do grau acadêmico de
Mestre.

Orientador:
Prof. Dr. Jurandir Marcondes Ribas Filho

Westphal, Sebastião José

Alterações histológicas precoces após torção do cordão
espermático em ratos wistar

Sebastião José Westphal. ____ Curitiba – Blumenau, 2000.

60 p.: il. (color)

(Dissertação – Mestrado – Universidade Federal do Paraná
e Universidade Regional de Blumenau)

Orientador: Prof. Dr. Jurandir Marcondes Ribas Filho

1. Torção Testicular 2. Alterações Histológicas



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA CIRÚRGICA
NÍVEL MESTRADO - DOUTORADO

Ata do julgamento da 158ª dissertação de mestrado e do 203ª do Curso para conclusão do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica, Nível Mestrado da Universidade Federal do Paraná, referente o aluno: Sebastião José Westphal com o título: "ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS PRECOCES APÓS TORÇÃO DO CORDÃO ESPERMÁTICO EM RATOS WISTAR", realizada em sete de dezembro de dois mil.

Às onze horas do dia sete de dezembro de dois mil, na Sala da Divisão de Pós-Graduação da Fundação Universidade Regional de Blumenau, teve início a prova em epígrafe, constituída a Comissão Examinadora pelos Professores Lydia Masako Ferreira, Bruno Zilberstein e Júlio Cezar Uili Coelho, sendo este último Presidente da Comissão. Aberta a sessão foi apresentada pelo Prof. Dr. Antonio Carlos L. Campos Coordenador do Programa, a documentação probatória do cumprimento pelo candidato das exigências legais que lhe facultam submeter-se à avaliação da dissertação, como última etapa à sua titulação no Programa. A seguir o Presidente da Comissão convidou o candidato a apresentar oralmente resumo de sua dissertação no prazo máximo de trinta minutos para demonstração de sua capacidade didática e para melhor conhecimento do tema por parte da audiência composta de professores, médicos, alunos, familiares e demais interessados. Seguiu-se a arguição e imediata resposta pelo candidato, sucessivamente pelos componentes da Comissão Examinadora, obedecido o tempo máximo de vinte minutos para a arguição e igual tempo para cada resposta. Terminada a etapa de arguição, reuniu-se a Comissão Examinadora em sala reservada para atribuição das notas, dos conceitos e lavratura do Parecer Conjunto necessário. Os conceitos e notas atribuídos foram: Profa. Dra. Lydia Masako Ferreira: conceito " A " e equivalência " 9,0 " ; Prof. Dr. Bruno Zilberstein: conceito " A " e equivalência " 9 " ; Prof. Dr. Julio Cezar Uili Coelho: conceito " A " e equivalência " 9,0 ". Voltando a sala de sessão, o senhor Presidente da Comissão leu os conceitos do Parecer Conjunto, dando como final o conceito " A " e equivalência a " 9,0 ", e a recomendação de que a dissertação com o título já referido, possa ser publicada na forma final nos meios de divulgação científica adequados, depois de incorporadas as sugestões apresentadas no decurso das arguições. E para que tudo conste, foi lavrada a presente Ata, que vai assinada pelos componentes da Comissão Examinadora.

Profa. Dra. Lydia Masako Ferreira

Prof. Dr. Bruno Zilberstein

Prof. Dr. Julio Cezar Uili Coelho

A sabedoria não nos é dada; é preciso descobri-la por nós mesmos, depois de uma viagem que ninguém nos pode poupar ou fazer por nós.
Marcel Proust

Para **Lúcia**, minha querida esposa e meus filhos **Daniela, Diego e Rafael**, pelo constante estímulo e alegria de viver.

Ao amigo e incentivador desta etapa de minha vida, **Orlando Hugo Praun Jr.**

AGRADECIMENTOS

Ao **Professor Dr. Jurandir Marcondes Ribas Filho**, pelo incentivo constante e por acreditar que poderíamos realizar um trabalho experimental, debruçando-se em inúmeras horas de revisões e correções para podermos atingir a meta final. Mestre exigente e amigo das horas difíceis, permitindo assim a concretização deste trabalho.

Ao **Professor Dr. Osvaldo Malafaia**, por acreditar na possibilidade e viabilizar o programa de Mestrado Interinstitucional em Clínica Cirúrgica da Universidade Regional de Blumenau e Universidade Federal do Paraná.

Ao **Professor Dr. Luis Renato Mello**, pelo estímulo e paciência com seus mestrandos e amigos

Aos Patologistas **Elisiário Pereira Neto e Daniel Oseas Sesserino**, pelas horas de trabalho na análise histológica das peças experimentais.

À **Fundação Universidade Regional de Blumenau – FURB**, pela iniciativa de viabilizar o programa de Mestrado Interinstitucional.

À **Universidade Federal do Paraná – UFPR**, cuja disposição de difundir o conhecimento se materializa em iniciativas pioneiras e que muito contribuirão para a formação Acadêmica Nacional.

À **Universidade do Vale do Itajaí – UNIVALI**, pela cessão do Laboratório de Cirurgia Experimental para a realização deste trabalho.

Ao meu irmão **Edemir Westphal**, cuja orientação e amparo foi fundamental em minha formação médica, princípio desta jornada.

Aos meus pais **Edgar e Nathália**, hoje orgulhosos, que porém lutaram com dificuldades e perseverança para dar aos seus filhos algo que ninguém poderá tirar, uma sólida formação pessoal e o estudo.

Aos **Amigos, novos Mestres**, com quem encerramos esta caminhada, e que por certo permanecerão como parte de nossa história, aquela que escrevemos nas páginas do tempo e que nunca se apagará.

À **todos** que direta ou indiretamente colaboraram para a concretização de mais esta etapa na vida de um irrequieto Médico do interior.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	vii
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	4
3 MATERIAL E MÉTODOS	10
3.1 ANIMAL DE EXPERIMENTAÇÃO	11
3.2 DIVISÃO DOS GRUPOS	11
3.3 PRÉ-OPERATÓRIO	12
3.4 ANESTESIA	12
3.5 TÉCNICA OPERATÓRIA	12
3.6 EUTANÁSIA	14
3.7 TÉCNICA HISTOLÓGICA	14
3.8 CRITÉRIOS DE AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA	14
3.9 METODOLOGIA ESTATÍSTICA	15
4 RESULTADOS	16
4.1 GRUPO CONTROLE	17
4.2 GRUPO 2 - TORÇÃO MANTIDA POR 1 HORA	18
4.2 GRUPO 2 - TORÇÃO MANTIDA POR 1 HORA	18
4.3 GRUPO 3 - TORÇÃO MANTIDA POR 2 HORAS	19
4.4 GRUPO 4 - TORÇÃO MANTIDA POR 4 HORAS	20
4.5 ANÁLISE DOS RESULTADOS	23
5 DISCUSSÃO	26
5.1 ANIMAL DE EXPERIMENTAÇÃO	27
5.2 ANESTESIA	27
5.3 TÉCNICA OPERATÓRIA	28
5.4 ALTERAÇÕES DO INTERSTÍCIO, EDEMA E CONGESTÃO	28
5.5 ALTERAÇÕES DAS CÉLULAS DA LINHAGEM GERMINATIVA	28
5.6 CONSIDERAÇÕES GERAIS	29
6 CONCLUSÕES	30
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

LISTA DE FIGURAS

1	RATO WISTAR, ANESTESIADO E FIXADO AO CAMPO OPERATÓRIO	12
2	INCISÃO E EXPOSIÇÃO DO TESTÍCULO	13
3	ROTAÇÃO TESTICULAR DE 360 GRAUS	13
4	ROTAÇÃO TESTICULAR DE 720 GRAUS	13
5	TESTÍCULO EM REPOUSO APÓS A TORÇÃO	13
6	PADRÃO HISTOLÓGICO NORMAL, H.E.(100X)	17
7	PADRÃO HISTOLÓGICO NORMAL, H.E.(400X)	17
8	CONGESTÃO VASCULAR (+), H.E.(100X)	18
9	PRESENÇA DE EDEMA (+), H.E.(400X)	18
10	EDEMA INTERSTICIAL (++) , H. E.(400X)	19
11	CONGESTÃO VASCULAR (++), H.E.(400X)	20
12	CONGESTÃO VASCULAR (+++), H.E. (400X)	21
13	EDEMA INTERSTICIAL (+++), H. E.(400X)	21
14	EFEITO ISQUÊMICO CELULAR TUBULAR H.E.(400X)	22
15	ALTERAÇÕES DAS CELULAS GERMINATIVAS H.E.(400X)	22

LISTA DE TABELAS

1	ALTERAÇÕES DO INTERSTÍCIO	15
2	ALTERAÇÕES DAS CÉLULAS GERMINATIVAS	15
3	AVALIAÇÃO DO INTERSTÍCIO - 1H	18
4	AVALIAÇÃO DAS CÉLULAS GERMINATIVAS - 1H	19
5	AVALIAÇÃO DO INTERSTÍCIO - 2H	19
6	AVALIAÇÃO DAS CÉLULAS GERMINATIVAS - 2H	20
7	AVALIAÇÃO DO INTERSTÍCIO - 4H	20
8	AVALIAÇÃO DAS CÉLULAS GERMINATIVAS - 4H	21
9	OCORRÊNCIA DE CONGESTÃO VASCULAR NO INTERVALO DE TEMPO DE TORÇÃO	23
10	OCORRÊNCIA DE EDEMA NO INTERVALO DE TEMPO DE TORÇÃO	24
11	PRESENÇA DE ALTERAÇÕES DAS CÉLULAS GERMINATIVAS NO INTERVALO DE TEMPO DE TORÇÃO	24

RESUMO

Objetivou-se reproduzir um modelo experimental para quantificar as alterações histológicas precoces, em períodos de 1, 2 e 4 horas após torção do cordão espermático de 720 graus. Utilizou-se 40 Ratos Wistar, submetidos a anestesia intraperitoneal com Pentobarbital Sódico, divididos em 4 grupos de 10 animais. A torção do cordão espermático foi obtida pela rotação de 720 graus do testículo esquerdo no sentido horário. Grupo 1 – controle, submetido a orquiectomia imediatamente após a anestesia. Grupo 2 – Torção do cordão espermático pelo período de 1 hora, Grupo 3 – torção mantida por 2 horas e, Grupo 4 – torção mantida por 4 horas, seguindo-se a orquiectomia. As peças obtidas foram submetidas a processamento histotécnico e coloração pela técnica de hematoxilina e eosina. Os parâmetros avaliados para a análise do interstício foram a presença de congestão vascular e edema; considerou-se alterações ausentes (0), discretas (+), moderadas (++) e intensas (+++). Para as células da linhagem germinativa considerou-se presentes (+) a existência de desarranjo celular, diminuição da população germinativa ou degeneração celular. Demonstrou-se que as alterações mais precoces identificadas são as do interstício. Observou-se que a congestão vascular aumentou com o decorrer do tempo de torção ($p < 0,01$). O edema acentuou no grupo 3, porém manteve a característica evolutiva no grupo 4 ($p < 0,01$). A análise das células da linhagem germinativa, demonstrou alterações (+) nos grupos 3 e 4, com característica evolutiva ($p < 0,01$). Concluiu-se que as alterações histológicas são dependentes do tempo de torção do cordão espermático. O interstício apresenta congestão vascular e edema já na primeira hora, que pioram com o decorrer do tempo de torção. As alterações das células da linhagem germinativa ocorreram após duas horas e predominaram após quatro horas de torção do cordão espermático. Demonstrou-se a viabilidade técnica da reprodução do modelo experimental, de torção do cordão espermático em ratos.

ABSTRACT

The objective of this research was to reproduce an experimental model to quantify the early histological alterations over periods of 1, 2 and 4 hours after 720 degree spermatic cord torsion. Forty Wistar rats were divided in to 4 group with 10 animals each. They were submitted to sodium pentobarbital intraperitoneal anesthesia and wich was followed by spermatic cord torsion by means of a clockwise 720-degree rotation of the left testicle. Group 1 – The control group (group 1) was submitted to orchiectomy immediately after anesthesia; group 2 – 720 degree spermatic cord torsion for a period of 1 hour; group 3 – torsion maintained for 2 hours; and group 4 - torsion maintained for 4 hours, followed by orchiectomy. The pieces obtained were submitted to histotechnical process and staining using the technique of hematoxylin and eosin. The parameters evaluated for the analysis of interstitium were the presence of vascular congestion and edema. These alterations were quantified as absent (0), discrete (+), moderate (++) and intense (+++). For the cells of germinative origin, the existence of cellular disarrangement, diminution in the germinative population or cellular degeneration were determined as present (+). The results show that the most early identified alterations are those of interstitium. It was observed that the vascular congestion increased with the torsion time ($p < 0.01$). The edema was increased in group 3, but it maintained the evolution pattern in group 4 ($p < 0.01$). In relation to the cells of germinative origin, the analysis of the results showed the presence of alterations (+) in groups 3 and 4, with an evolution pattern. It was concluded that histological alterations increased over the torsion time of spermatic cord. Vascular congestion and edema were observed in the first hour of the spermatic cord torsion and the alterations in the cells of germinative origin took place after two hours and remained until the fourth hour of spermatic cord torsion. Thus demonstrating the viability of the experimental model of spermatic cord torsion in rats.

Introdução

1 INTRODUÇÃO

A descrição de um caso típico de torção do cordão espermático foi feita por Hunter em 1810. Já Delasiauve, em 1840, relatou o primeiro caso tratado cirurgicamente em paciente com testículo ectópico, conforme citado por NOSKE et al.(1998). Subseqüentemente foi descrita por Taylor, em 1897, a torção de cordão espermático em jovem com testículos presentes na bolsa escrotal. Foram porém, Rigby e Howard em 1907 que descreveram a torção do cordão espermático como patologia bem definida cujo caráter cirúrgico de urgência deve ser conhecido pelos médicos (MALOSSINI et al.1992). Desde então a torção do cordão espermático foi descrita em todas as décadas de vida, com relatos de casos até os 78 anos de idade. Representa quadro de emergência urológica, com incidência estimada em 1:158 homens com idade até 25 anos, sendo que os períodos de maior incidência são no neonato e entre os 13 e 18 anos.

O diagnóstico diferencial é feito basicamente com patologias não cirúrgicas como as epididimites e a torção de apêndices testiculares, porém a incidência de torção do cordão espermático varia entre 11 e 38% dos casos de dor testicular aguda, conforme observado por BURGHER (1998).

O período decorrido entre a manifestação inicial, normalmente de origem dolorosa e intensa, e o procedimento cirúrgico necessário para restabelecer o fluxo sangüíneo adequado ao órgão, é de fundamental importância para recuperação funcional do mesmo. Estudos em seres humanos demonstraram atrofia do testículo homolateral em 33 a 68% dos casos tratados conforme PRILLAMAN e TURNER(1997). Anteriormente, WRIGHT(1977) e MALOSSINI et al.(1992), concluíram que as melhores chances de recuperação funcional do testículo acontecem quando decorridas até 12 horas de torção. Analisando as alterações de espermograma KRARUP (1978) e BRASSO et al.(1993), demonstraram a correlação entre o tempo de torção do cordão espermático e as alterações de fertilidade em pacientes analisados retrospectivamente.

A torção experimental do cordão espermático em ratos foi analisada de maneira sistematizada por LUDWIG, HASELBERG e MÜNZENMAIER(1979) que relataram as alterações teciduais precoces e tardias após períodos variáveis de torção.

Os mecanismos de agressão tecidual não são claros, entretanto, observa-se que o aumento do fluxo intracelular de cálcio nos neutrófilos está implicado nos mecanismos de agressão celular após torção e reperusão do órgão. Este afluxo de cálcio às células isquêmicas causa aumento de atividade

enzimática que irá gerar radicais oxidantes livres, potenciais causadores de dano tecidual.

Os objetivos deste estudo são:

1. Correlacionar as alterações histológicas do testículo com o tempo de torção do cordão espermático em ratos nos períodos de 1, 2 e 4 horas.
 2. Quantificar as alterações do interstício analisando a presença de congestão vascular e edema.
 3. Quantificar as alterações degenerativas das células da linhagem germinativa do testículo.
-

Revisão da Literatura

2

REVISÃO DA LITERATURA

Procurou-se na revisão da literatura abordar os trabalhos relacionados com este estudo, publicados a partir de 1977, apresentados em ordem cronológica e mantidas a nomenclatura utilizada pelos autores.

WRIGHT(1977), analisou retrospectivamente 56 pacientes tratados por torção do cordão espermático. Concluiu que os pacientes operados com até 12 horas de torção tiveram ótima evolução, e que após 24 horas de sintomas a orquiectomia estava indicada.

KRARUP(1978), em estudo retrospectivo com 48 pacientes, constatou atrofia em 68% dos casos em que o testículo foi preservado, observou ainda alterações no espermograma em 18 de 19 pacientes analisados, sugerindo comprometimento do testículo contralateral.

LUDWIG, HASELBERG e MÜNZENMAIER(1979), observaram as alterações precoces do tecido testicular após torção experimental de 720° do cordão espermático em ratos Wistar, que corresponde a torção completa do testículo humano. Relataram que as mudanças mais precoces ocorreram nos túbulos seminíferos. Edema intersticial com vasodilatação e hiperemia já ocorrem na primeira hora que se seguiu a torção. Os autores observaram mudanças degenerativas nos núcleos das espermatogonias e espermatócitos depois de 1 hora. Após 2 a 4 horas foi observada necrose do epitélio, sendo que as mudanças tornaram-se irreversíveis após 6 horas de torção. As células de Leydig sofreram dano aparente após 2 a 3 horas e células de Sertoli após 4 a 6 horas.

Ainda LUDWIG, HASELBERG, e MÜNZENMAIER, (1979), analisaram os efeitos tardios da torção do cordão espermático(720°) de ratos Wistar; desfeita a torção observaram a reversibilidade das lesões, analisando os espécimes após 4 semanas e 3 meses. Concluíram que a torção de cordão espermático é reversível em todos os casos após o período de uma hora e, após 2 horas, em 40% dos casos. As células de Sertoli foram destruídas após 6 horas e as de Leydig após 10 horas, sendo que os autores não observaram danos do testículo contralateral.

PASSIA, IBACH e HILSCHER(1980), estudaram as alterações histológicas e histoquímicas em 40 ratos adultos, submetidos a torção experimental de cordão espermático. Para o grupo 01, composto por 4 subgrupos de 5 animais, os testículos foram removidos após períodos de 3, 6, 12 e 24 horas; o grupo 02, idênticos subgrupos foram reperfundidos após 3, 6, 12 e 24 horas, e removidos ambos os testículos após 3 meses. Concluíram que a extensão do dano agudo é dependente do tempo de torção; e que mesmo pequenos períodos podem afetar o testículo contralateral.

COSENTINO et al.(1986), analisaram os efeitos imediatos da torção do cordão espermático e 6 semanas após desfeita. Utilizaram 60 ratos adultos Sprague-Dawley, com períodos de torção de 1, 3, 5, 9 e 12 horas. Concluíram que os parâmetros significativamente alterados após uma hora de torção foram a morte de espermatozóides e espermátides, presença de edema, hemorragia e degeneração da estrutura das células germinativas. Estas alterações persistiram independente de desfeita a torção. Os animais submetidos a torção de 3 horas ou mais seguida de reperfusão, apresentaram após 6 semanas, alteração significativa de todos os parâmetros histológicos estudados.

RALITCHKOVA et al.(1990), realizaram estudo em ratos Wistar, sendo o grupo 1 – controle. Grupo 2 - ligadura definitiva unilateral do cordão espermático, seguida de análise após período de 1, 2 e 4 horas. Grupo 3 – torção testicular de 360 graus seguida de reperfusão com 4, 12 e 24 horas e análise após 1 mês. Os testículos removidos foram submetidos a estudo histológico e histoquímico. Para o grupo 2, após a primeira hora, 70% dos túbulos seminíferos estavam normais à histologia; após 2 horas 40% e após 4 horas 0%. As alterações do interstício foram congestão vascular e hemorragia. No grupo 3, os testículos com torção de 24 horas sofreram completa atrofia, atrofia avançada naqueles com 12 horas de torção e leves alterações histológicas nos de 4 horas de torção. A atividade enzimática relacionada com o metabolismo de carboidratos sofreu progressiva diminuição, correspondendo ao tempo de torção. Concluíram que a preservação testicular é possível quando decorrido menos do que 4 horas da torção.

GREENSTEIN et al.(1992), analisando as alterações histológicas de necrose tecidual e os efeitos da enzima polietileno glicol-superoxido dismutase nos danos histológicos após desfeita torção testicular, observaram que não houve diferença significativa, estatisticamente demonstrável, entre o grupo controle e o grupo que recebeu injeção intraperitoneal da enzima 1 hora antes de desfazer a torção.

SAKAI e SROUGI(1992), analisaram os efeitos da torção unilateral do cordão espermático em ratos, correlacionando-a com a fertilidade. Concluíram que não houve redução na capacidade fértil após a torção unilateral do cordão espermático.

MALLOSSINI et al.(1992), analisaram dois grupos de pacientes tratados por torção testicular em seu serviço, no período de 1976 à 1989. Estes pacientes foram divididos de acordo com o tempo decorrido entre o diagnóstico e a intervenção cirúrgica. Observaram que nos pacientes operados até 12 horas após a torção, houve preservação do tamanho testicular. Nos pacientes operados após 12 horas, a atrofia testicular foi observada em 46% dos casos.

BRASSO et al.(1993), examinaram 35 pacientes entre 6 e 11 anos após cirurgia de torção do cordão espermático. Observaram que o dano testicular estava associado com períodos maiores de duração dos sintomas e estes apresentavam também baixa contagem de espermatozoides; sendo que aumentos dos níveis séricos de FSH e LH estavam presentes nos pacientes com intervalo superior a 8 horas decorridos entre a manifestação dos sintomas e a resolução cirúrgica.

CHOI et al.(1993), analisaram o metabolismo celular no testículo contralateral após torção experimental do cordão espermático em ratos, por períodos de 3, 8 e 24 horas. Observaram que em períodos superiores a 8 horas de torção ocorreram significativas alterações no metabolismo do testículo contralateral. Sugerem que mecanismos sistêmicos e imunológicos além do processo inflamatório local estão envolvidos nos períodos após a torção.

BLANK et al.(1993), estudaram os efeitos da reperfusão testicular após desfeita a torção de cordão em ratos. O estudo utilizou dois grupos de animais, onde o primeiro sofria torção de 720 graus somente. Para o segundo grupo, antes de desfeita a torção era administrado aos animais catalisador de radicais livres (deferoxamina), bloqueador de canais de cálcio (diltiazem) ou solução salina. Concluíram que os testículos reperfundidos apresentam dano qualitativo distinto daqueles que somente foram submetidos a torção, porém as drogas utilizadas não diminuíram o dano testicular.

AKGÜR et al.(1993), estudaram bioquimicamente os danos da reperfusão após desfeita a torção testicular de 720 graus unilateral por períodos de 1 e 2 horas. Foram avaliados os níveis de ácido láctico, hipoxantina e produtos de peroxidação de lipídios no tecido testicular homogeneizado. Todos os três parâmetros sofreram aumentos significativos, nos grupos submetidos a torção por 1 e 2 h. A reperfusão causou mudanças significativas nos níveis de produtos de peroxidação de lipídios, nos testículos ipsilaterais, porém sem alteração nos testículos contralaterais. Concluíram que a torção testicular até 2 horas, diminui a perfusão de ambos os testículos, entretanto a reperfusão causa dano no testículo ipsilateral, não afetando o contralateral.

AKGÜR et al.(1994), observaram os efeitos do alopurinol prevenindo a peroxidação de lipídios nas membranas das células após a reperfusão testicular. Utilizaram 11 grupos de ratos Wistar, submetidos a torção testicular de 720 graus por períodos de 1, 3 e 5 horas, seguidas ou não de reperfusão. Foi avaliada a concentração de tiobarbitúrico ácido reativo (TBAR) - produto da peroxidação dos lipídios celulares - no testículo e tecido renal. Os autores relataram que a torção testicular causou um aumento significativo de TBAR nos testículos e não nos rins. A reperfusão testicular promoveu um aumento significativo adicional de TBAR nos testículos. O pré tratamento com alopurinol preveniu este aumento adicional. Concluíram que o pré tratamento com alopurinol previne o dano decorrente da reperfusão tecidual.

KALLERHOFF et al.(1996), utilizando testículos humanos, produtos de orquiectomias, observaram os efeitos da temperatura e isquemia associada a alterações de pH, acúmulo de lactato e morfologia celular. Relataram que após 6 horas de isquemia o pH tecidual decresceu para 5,8 e o tecido testicular foi destruído, sendo que as alterações irreversíveis provavelmente ocorrem quando o pH é menor que 6; enquanto que o resfriamento previne a acidificação e as alterações morfológicas.

ULMAN et al.(1996), avaliaram o valor diagnóstico da enzima creatina quinase (CK) no período precoce de torção testicular, utilizando grupos de ratos submetidos a torção testicular e coleta de sangue para dosagem da CK e suas isoenzimas, em períodos de 2, 4 e 6 horas. Os testículos foram removidos e submetidos a análise histopatológica. Aumentos significativos nos níveis enzimáticos foram observados nos grupos de 4 e 6 horas de torção. A análise histopatológica mostrou vários graus de edema, congestão e hemorragia, porém não evidenciou necrose tecidual. Estes dados sugerem que os níveis de CK séricos aumentam significativamente antes da necrose do tecido testicular. Isto pode ter valor como teste diagnóstico, desde que venha a ser comprovado com estudos clínicos.

PRILLAMAN e TURNER(1997), analisaram torção de 720 graus do cordão espermático em ratos por períodos de 1 e 2 horas. Estes animais receberam combinações de superóxido dismutase (SOD), catalase, alopurinol e verapamil; administradas por via intravenosa durante os últimos 15 minutos de torção e a primeira hora de reperfusão. Relataram que a utilização de enzimas desdobradoras de radicais livres – superóxido dismutase e catalase – promoveram significativa recuperação funcional de testículos de ratos, após torção experimental de 01 hora; sendo que a utilização associada de alopurinol e verapamil não apresentaram incrementos significativos na recuperação da função testicular. Nenhuma recuperação significativa de função foi observada nos testículos que sofreram 2 horas de torção.

SABA et al.(1997), analisaram as mudanças morfológicas e bioquímicas em testículos ipsilaterais e contralaterais de ratos, sendo um grupo submetido somente a torção do cordão espermático por 1 ou 2 horas e outro à torção e reperfusão, avaliados após 01 semana. Os danos morfológicos foram tempo dependente; sendo que as alterações após uma hora acometeram as células de linhagem germinativa, não sendo observadas alterações nas células do espaço intersticial. Após duas horas, os danos celulares foram significativamente mais intensos provocando degeneração celular, que determinou piora progressiva nos testículos reperfundidos, porém não houveram alterações nos testículos contralaterais. A análise bioquímica mostrou que os níveis de substâncias oxidantes diminuíram nos testículos torcidos, porém não alteraram nos testículos contralaterais; entretanto os níveis de tiobarbitúricos (indicadores de peroxidação lipídica) estavam aumentados

em ambos os testículos. Portanto a dosagem destes indicadores parece ser mais sensível que as técnicas histológicas na detecção de danos para o testículo contralateral.

BECKER et al.(1997), estudaram através de Doppler fluxometria a laser, as alterações do fluxo sanguíneo microvascular, após desfeita torção testicular de 720 graus por 1, 2 ou 4 horas; em ratos adultos e pré púberes. A torção testicular eliminou o fluxo sanguíneo tanto em ratos adultos como pré púberes; quanto maior o tempo de torção menor foi o fluxo de retorno após a reperfusão. Nos ratos pré-púberes o baixo fluxo de retorno manifestou-se somente no grupo de 4 horas de torção, enquanto que nos animais adultos foi observado nos grupos de 2 e 4 horas. Efeito vasomotor ou pulsação microvascular existentes antes da torção nos animais adultos e pré-púberes, não foram observados após desfeita a torção. Tal alteração da microcirculação poderá estar envolvida nos danos teciduais decorrentes da torção testicular aguda.

ORTIZ e ARAÚJO (1998), analisaram os efeitos da torção do cordão espermático relacionados a fertilidade em ratos. Dois grupos foram submetidos a torção de 720 graus do cordão espermático por 6 horas. O grupo 1 foi submetido a orquiectomia e o grupo 2 desfeita a torção. Analisaram o líquido seminal colhido diretamente nos túbulos seminíferos após 70 e 105 dias. Concluíram que não ocorreram alterações da concentração de espermatozóides do testículo contralateral, porém, quando conservado o testículo torcido, ocorre a diminuição da motilidade dos espermatozóides.

SARICA et al.(1999), analisaram o efeito protetor do Verapamil para o testículo contralateral, na torção do cordão espermático em ratos Wistar. Concluíram que o efeito protetor do verapamil para o testículo contralateral foi evidente, analisando a histologia testicular e o diâmetro dos túbulos seminíferos. Quando foi realizada orquiectomia do testículo afetado, este efeito foi mais acentuado, sendo observada preservação da estrutura tubular e da histologia após uma semana do uso de verapamil.

Material e Método

3 MATERIAL E MÉTODO

O presente estudo foi realizado com o apoio da Fundação Universidade Regional de Blumenau (FURB) e da Universidade Federal do Paraná (UFPR), sendo utilizado o Laboratório de Cirurgia Experimental da Faculdade de Odontologia da Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI) para a realização do experimento científico.

Foram utilizadas as Normas para referências bibliográficas (NBR 6023) de 1989 e, Normas para apresentação de citações em documentos (NBR 10520) de 1988, da Associação Brasileira de normas Técnicas (ABNT).

Utilizou-se as Normas de Apresentação de Trabalhos da Universidade Federal do Paraná, 6ª edição de 1996.

Seguiu-se a nomenclatura científica da Nomina Anatômica Veterinária de 1983 e observou-se os princípios éticos na experimentação animal segundo preconizado pelo COBEA - Colégio Brasileiro de experimentação Animal.

3.1 ANIMAL DE EXPERIMENTAÇÃO

O grupo de experimentação foi composto por 40 ratos albinos machos, da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*, Rodentia Mamalia), com idade em torno de 90 dias, peso entre 240 e 270 g, fornecidos pelo Biotério da Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI).

Os animais foram divididos em 4 grupos de 10, sendo o grupo 1 definido como grupo controle e os grupos 2, 3 e 4 como grupos de experimentação.

3.2 DIVISÃO DOS GRUPOS

Grupo 1 – Definido como grupo controle, submetidos a orquiectomia imediatamente após a exposição testicular.

Grupo 2 – Efetuada a torção do cordão espermático pelo período de 1 hora, seguida de orquiectomia.

Grupo 3 – Idêntico procedimento, porém decorrido tempo de torção de 2 horas.

Grupo 4 – Torção do cordão espermático por 4 horas, e posterior orquiectomia.

3.3 PRÉ-OPERATÓRIO

Os animais foram transferidos para o Laboratório de Cirurgia Experimental com 24 horas de antecedência ao experimento, passando a receber somente água e submetidos a ciclo de iluminação natural.

3.4 ANESTESIA

Os ratos foram anestesiados com a utilização de Pentobarbital Sódico por via Intraperitoneal, na dosagem de 50mg/Kg para os grupos 1, 2 e 3. O grupo 4 recebeu além da dose inicial, complementação anestésica de 25mg/kg decorridas duas horas de anestesia.

3.5 TÉCNICA OPERATÓRIA

O procedimento técnico sistematizado consistiu na fixação do animal através da preensão dos quatro membros ao campo operatório em decúbito dorsal, conforme demonstrado na Figura 1.

Seguiu-se a incisão da pele e tecido subcutâneo, na bolsa escrotal à esquerda com exposição testicular conforme demonstrado na Figura 2.

FIGURA 1 - RATO WISTAR, ANESTESIADO E FIXADO AO CAMPO OPERATÓRIO.

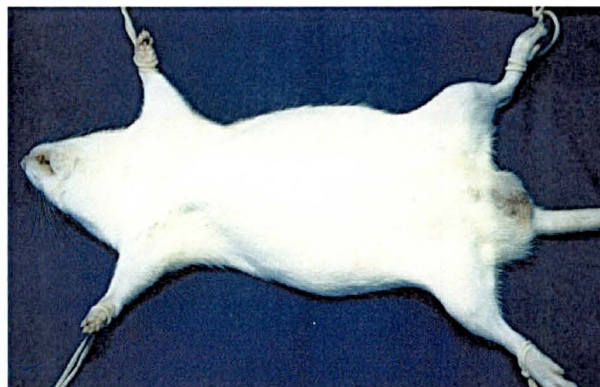


FIGURA 2 - INCISÃO E EXPOSIÇÃO DO TESTÍCULO



FIGURA 3 - ROTAÇÃO TESTICULAR DE 360 GRAUS



FIGURA 4 - ROTAÇÃO TESTICULAR DE 720 GRAUS.



FIGURA 5 - TESTÍCULO EM REPOUSO APÓS A TORÇÃO.



Após a exposição, procedeu-se a rotação de 720 graus do testículo esquerdo no sentido horário, promovendo assim a torção experimental do cordão espermático, conforme demonstrado nas Figuras 3 e 4.

O testículo após efetuada a torção, permaneceu durante o período determinado para cada grupo em repouso sobre o campo cirúrgico, evitando assim alteração da torção, conforme demonstrado na Figura 5.

Obedecidos os critérios de tempo de torção definidos para cada grupo, procedeu-se a orquiectomia e identificação do testículo, para posterior avaliação histológica.

Grupo 1 – Testículos A1 à A10

Grupo 2 – Testículos B1 à B10

Grupo 3 - Testículos C1 à C10

Grupo 4 – Testículos D1 à D10

3.6 EUTANÁSIA

Após completado o experimento os animais foram submetidos a eutanásia em câmpula fechada com exposição ao éter sulfídrico.

3.7 TÉCNICA HISTOLÓGICA

Os testículos obtidos do grupo controle e dos demais grupos foram colocados em recipiente identificado e fixados por imersão em líquido de Bouin (7,5 ml de ácido pícrico, 2,65 ml de ácido acético glacial e 2,5 ml de formaldeído a 7%) durante cinco dias, sendo medianamente seccionados para obtenção de melhor fixação histológica. Após, foram submetidos a processo histotécnico convencional de inclusão em parafina. Obtidos cortes de 5mm de espessura, desparafinados e corados pela técnica de hematoxilina e eosina (H.E.).

3.8 CRITÉRIOS DE AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA

A avaliação das alterações histológicas foi realizada por Patologista que inicialmente se deteve na observação do grupo controle, analisando os padrões histológicos de normalidade testicular, visando a análise do compartimento intersticial (tecido conjuntivo e vascular), e também o epitélio germinativo e túbulos seminíferos (células de espermatogênese).

Considerando os limites da normalidade o observador quantificou os efeitos isquêmicos da torção testicular progressiva (1, 2 e 4 horas).

As variáveis analisadas pertinentes ao interstício foram a presença de edema e congestão vascular; quantificadas conforme descrito na Tabela 1.

TABELA 1 - ALTERAÇÕES DO INTERSTÍCIO

	AUSENTES	DISCRETAS	MODERADAS	INTENSAS
CONGESTÃO VASCULAR	0	+	++	+++
EDEMA	0	+	++	+++

As alterações isquêmicas das células da linhagem germinativa, foram determinadas como ausentes (0) ou presentes (+), sendo consideradas positivas a presença de uma ou mais das alterações descritas na Tabela 2.

TABELA 2 - ALTERAÇÕES DAS CÉLULAS GERMINATIVAS

	AUSENTE	PRESENTE
DESARRANJO CELULAR	0	+
REDUÇÃO DA POPULAÇÃO	0	+
DEGENERAÇÃO CELULAR	0	+

3.9 METODOLOGIA ESTATÍSTICA

Para a análise estatística obteve-se a quantificação das alterações por grupo estudado, 1, 2 e 4 horas, através da tabulação dos dados obtidos pelo Patologista. Foram consideradas a ocorrência das variáveis em cada grupo comparou-se a evolução das mesmas no decorrer do tempo de torção do cordão espermático.

Aplicou-se o Teste do Quiquadrado (χ^2) e foi calculada a significância dos resultados obtidos, considerou-se como valores significantes quando $p < 0,05$.

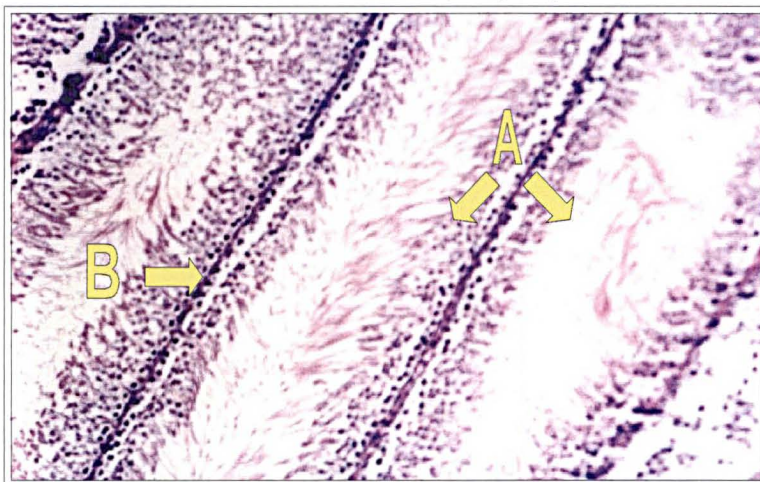
Resultados

4 RESULTADOS

4.1 GRUPO CONTROLE

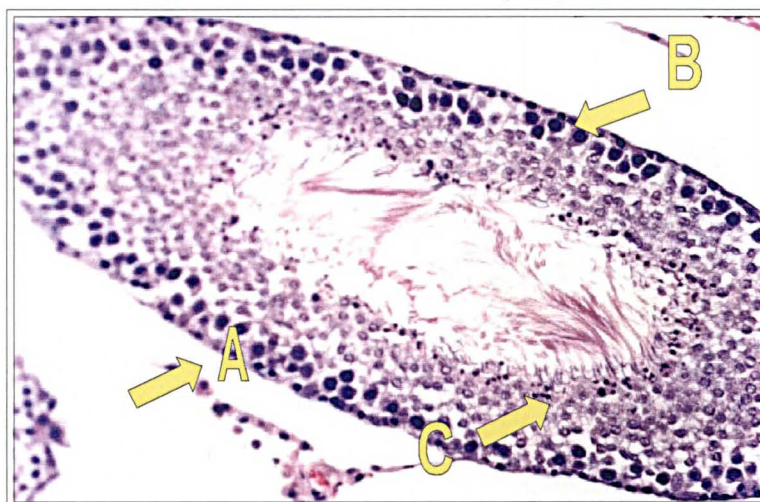
O grupo controle representa o padrão histológico e morfológico classificado como normal, que pode ser observado na Figura 6, onde em aumento de 100X evidenciou-se a estrutura testicular normal. Na Figura 7, em aumento de 400X, resalta-se as células de sustentação e a linhagem germinativa, observando-se espermatozóides alongados, com cauda luminal.

FIGURA 6 - PADRÃO HISTOLÓGICO NORMAL, H.E.(100X).



A) Túbulos seminíferos justapostos. B) Delgada interposição intersticial

FIGURA 7 - PADRÃO HISTOLÓGICO NORMAL, H.E.(400X).



A) Túbulo seminífero. B) Células de sustentação. C) Linhagem espermatogênica

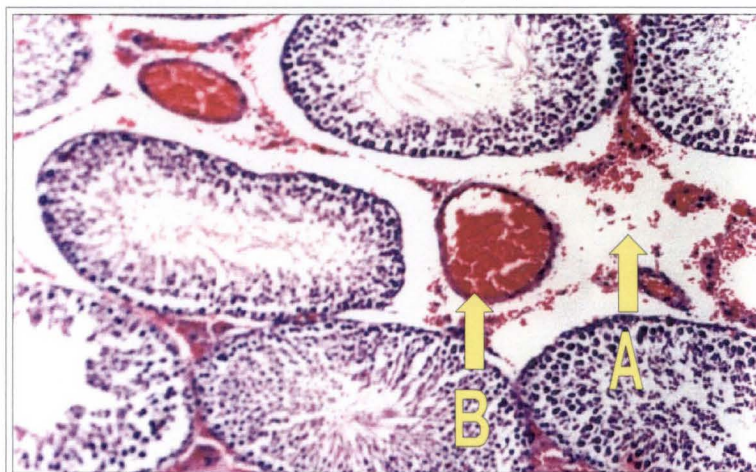
4.2 GRUPO 2 - TORÇÃO MANTIDA POR 1 HORA

A análise histológica deste grupo mostrou o predomínio de alterações intersticiais discretas em relação a presença de edema e de congestão vascular (Tabela 3). Não se observou predominância de um dos fatos, entretanto a congestão vascular e o edema são identificáveis conforme demonstrado nas Figuras 8 e 9.

TABELA 3 - AVALIAÇÃO DO INTERSTÍCIO - 1H

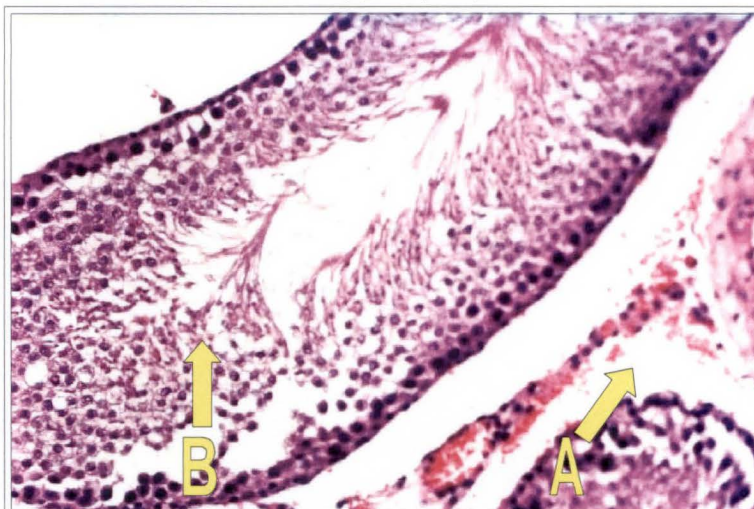
	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10
Congestão vascular	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+
Edema	+	++	+	++	+	+	+	+	+	+

FIGURA 8 - CONGESTÃO VASCULAR (+), H.E.(100X).



A) Alargamento intersticial - Edema. B) Congestão vascular

FIGURA 9 - PRESENÇA DE EDEMA (+), H.E.(400X).



A) Dissociação intersticial. B) Preservação da espermatogênese

TABELA 4 - AVALIAÇÃO DAS CÉLULAS GERMINATIVAS - 1H

	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10
Desarranjo Celular	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Redução da População	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Alteração Degenerativa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

As alterações nas células de linhagem germinativa não foram observadas em nenhum dos espécimes deste grupo, conforme demonstrado na Tabela 4. Observou-se a preservação da atividade espermatogênica com este período de isquemia (Fig. 9).

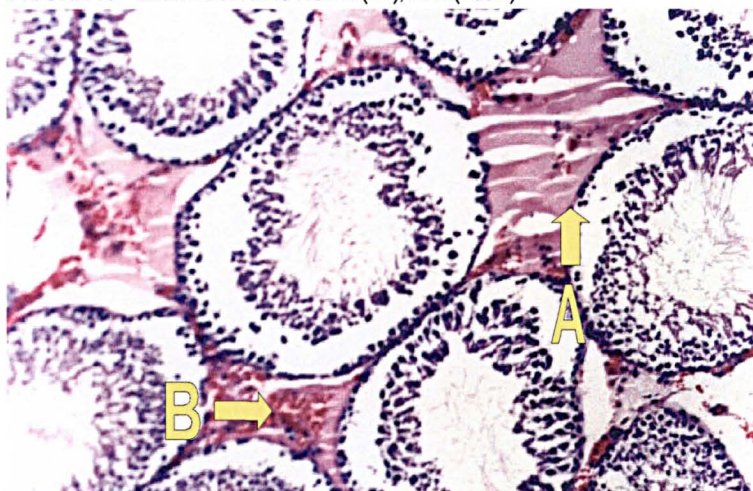
4.3 GRUPO 3 – TORÇÃO MANTIDA POR 2 HORAS

Neste grupo as alterações de interstício se acentuaram, predominando a presença de edema moderado (Fig. 10), e apresentando acentuação dos achados de congestão vascular (Fig. 11). A quantificação das alterações está demonstrada na Tabela 5.

TABELA 5 - AVALIAÇÃO DO INTERSTÍCIO - 2H

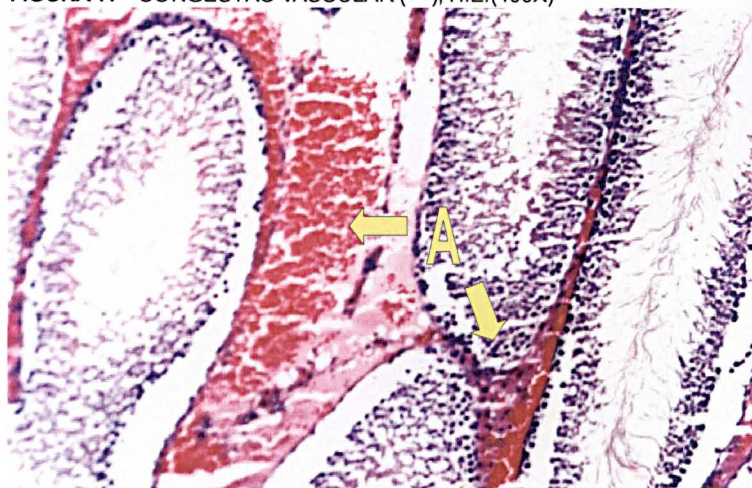
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10
Congestão vascular	+	++	+	+	++	+	++	+++	+	++
Edema	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++

FIGURA 10 – EDEMA INTERSTICIAL (++) , H. E. (400X)



A) Exudação líquida B) Vasodilatação

FIGURA 11 – CONGESTÃO VASCULAR (++) , H.E.(400X)



A) Extravasamento de hemáceas no interstício

A presença de alterações nas células da linhagem germinativa ocorre em pequeno número e inicia-se com a presença de desarranjo da arquitetura celular (Tabela 6).

TABELA 6 – AVALIAÇÃO DAS CÉLULAS GERMINATIVAS - 2H

	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10
Desarranjo Celular	0	0	+	0	0	0	0	0	0	+
Redução da População	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Alteração Degenerativa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

4.4 GRUPO 4 – TORÇÃO MANTIDA POR 4 HORAS

As alterações dos elementos intersticiais tornaram-se evidentes, indicativos da presença de sofrimento do órgão. Observou-se alterações intensas e moderadas predominando na análise de congestão vascular (Fig.12) e na avaliação do edema predominaram as alterações moderadas (Fig.13), porém mantendo o padrão progressivo para ambos os aspectos, conforme observado na Tabela 7.

TABELA 7 - AVALIAÇÃO DO INTERSTÍCIO - 4H.

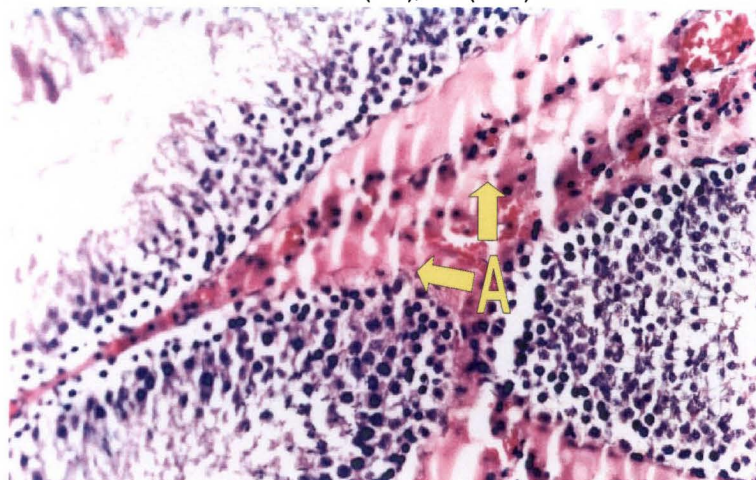
	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10
Congestão vascular	+	++	+++	++	++	++	+++	+++	++	+++
Edema	++	++	++	++	+	++	+++	++	++	+++

FIGURA 12 - CONGESTÃO VASCULAR (+++), H.E. (400X)



A) Congestão vascular intensa B) Hemorragia intersticial

FIGURA 13 – EDEMA INTERSTICIAL (+++), H. E.(400X)

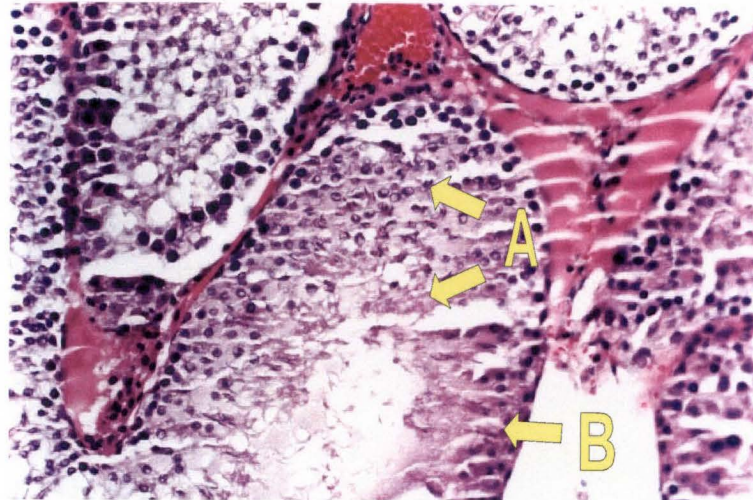


A) Edema intersticial intenso

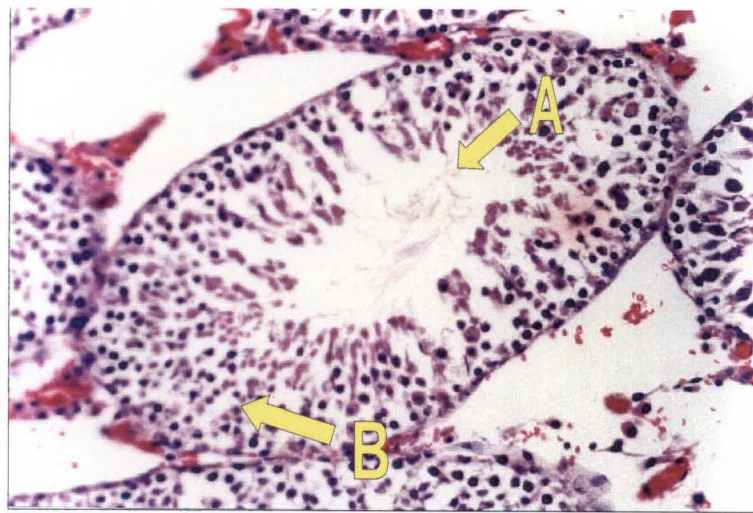
Decorrido período de 4 horas, as alterações das células da linhagem germinativa tornaram-se evidentes (Tabela 8), porém ainda com predomínio do desarranjo da arquitetura celular (Fig.14), embora já ocorrendo a presença de redução da população celular, caracterizada pela diminuição de espermatozoides e espermátides e degeneração celular (Fig.15). Observou-se ainda a presença de edema intratubular, indicativo de sofrimento celular (Fig.14).

TABELA 8 - AVALIAÇÃO DAS CÉLULAS GERMINATIVAS - 4H.

	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10
Desarranjo Celular	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+
Redução da População	+	0	0	0	0	0	+	0	+	+
Alteração Degenerativa	+	0	0	0	0	+	+	0	0	+

FIGURA 14 - EFEITO ISQUÊMICO CELULAR TUBULAR H.E. (400X)

A) Desarranjo da arquitetura celular B) Edema intratubular

FIGURA 15 - ALTERAÇÕES DAS CELULAS GERMINATIVAS H.E. (400X)

A) ausência de espermatozoides caudados na luz tubular.
B) alterações degenerativas das células.

4.5 ANÁLISE DOS RESULTADOS

A tabulação dos dados permitiu estabelecer a significância estatística para as alterações de congestão vascular, conforme demonstrado na Tabela 9 e no Gráfico I.

TABELA 9 - OCORRÊNCIA DE CONGESTÃO VASCULAR NO INTERVALO DE TEMPO DE TORÇÃO

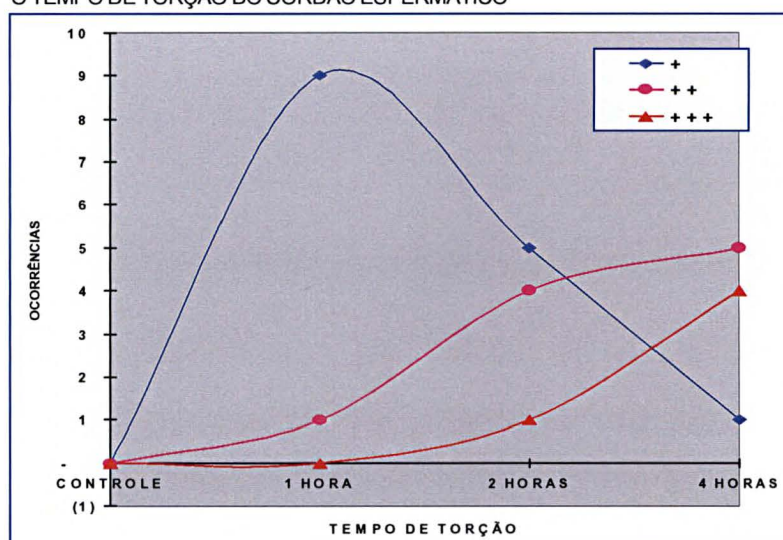
	1h	2h	4h
+	9	5	1
++	1	4	5
+++	0	1	4

Aplicando-se o teste do Quiquadrado na tabela de ocorrências de Congestão vascular vamos obter o χ^2 calculado:

$$\chi^2 = 14,2$$

O nível de significância encontrado foi $p < 0,01$; conferindo validade estatística aos resultados.

GRÁFICO I - OCORRÊNCIAS DE CONGESTÃO VASCULAR RELACIONADAS COM O TEMPO DE TORÇÃO DO CORDÃO ESPERMÁTICO



A ocorrência de edema intersticial foi tabulada (Tabela 10) e demonstrada sua progressão no decorrer do tempo de torção do cordão espermático, conforme observado no Gráfico II.

TABELA 10 - OCORRÊNCIA DE EDEMA NO INTERVALO DE TEMPO DE TORÇÃO

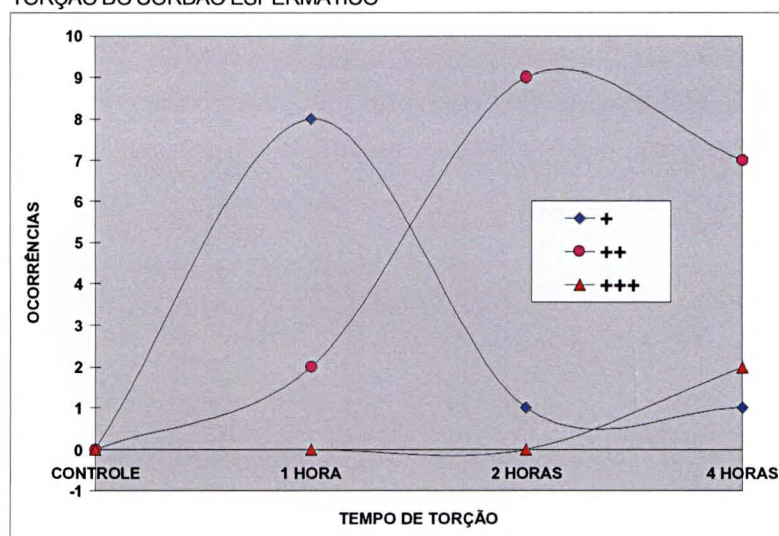
	1h	2h	4h
+	8	1	1
++	2	9	7
+++	0	0	2

Aplicando-se o teste do Quiquadrado na tabela de ocorrência de edema obtivemos o valor calculado de:

$$\chi^2 = 17,53$$

O nível de significância encontrado foi $p < 0,01$; confirmando estatisticamente a validade dos resultados obtidos no parâmetro analisado.

GRÁFICO II - OCORRÊNCIAS DE EDEMA RELACIONADAS COM O TEMPO DE TORÇÃO DO CORDÃO ESPERMÁTICO



Os dados referentes as alterações da linhagem germinativa foram tabulados considerando-se a existência ou não de alterações, ou seja a positividade do fato esperado, aplicou-se a mesma metodologia estatística, conforme observado na Tabela 11.

TABELA 11 - PRESENÇA DE ALTERAÇÕES DAS CÉLULAS GERMINATIVAS NO INTERVALO DE TEMPO DE TORÇÃO

	2h	4h
Ausência (0)	8	1
Presença (+)	2	9

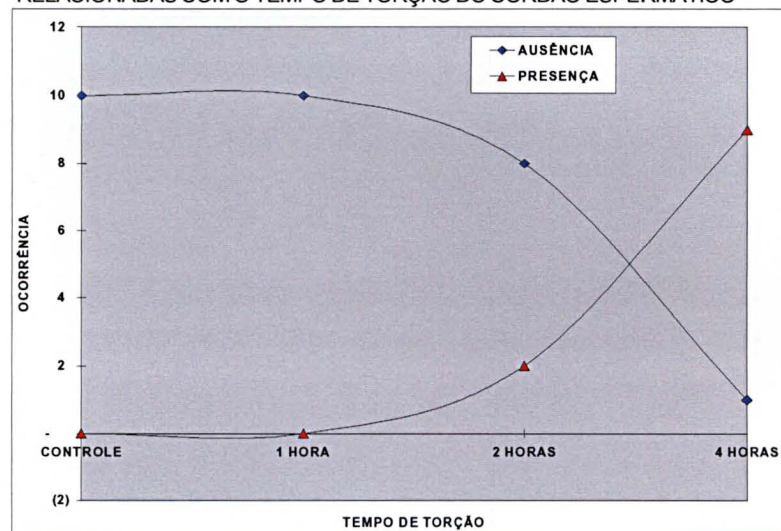
Aplicando o teste do Quiquadrado nos dados da Tabela 11, encontramos:

$$\chi^2 = 9,89$$

O nível de significância encontrado foi $p < 0,01$; confirmando a validade estatística dos resultados.

O Gráfico III, mostra a ocorrência de alterações nas células da linhagem germinativa no decorrer do tempo, evidenciando que as mesmas são mais resistentes a isquemia tecidual decorrente da torção do cordão espermático.

GRÁFICO III - OCORRÊNCIA DE ALTERAÇÕES DAS CÉLULAS GERMINATIVAS RELACIONADAS COM O TEMPO DE TORÇÃO DO CORDÃO ESPERMÁTICO



Discussão

5 DISCUSSÃO

A preocupação com a viabilidade testicular após a torção do cordão espermático tem sido motivo freqüente de estudos. À semelhança de LUDWIG, HASELBERG e MÜNZENMAIER(1979), COSENTINO et al. (1986) e RALITCHKOVA et al.(1990), procurou-se quantificar de maneira experimental, a evolução do dano tecidual demonstrado através da análise histológica, no decorrer do período de tempo de torção.

5.1 ANIMAL DE EXPERIMENTAÇÃO

A utilização do rato como animal de experimentação foi observada na grande maioria dos relatos, sendo exceções os trabalhos em porcos da Índia, como por exemplo o relatado por EROL et al.(1992), e a utilização de cães descrita por ORTIZ et al.(1988).

A facilidade de obtenção e da realização da técnica cirúrgica e o baixo custo, foram fatores decisivos na utilização de ratos para este experimento.

5.2 ANESTESIA

Utilizou-se a anestesia intraperitoneal com Pentobarbital Sódico na dose de 50mg/kg. Esta dosagem foi descrita por PRILLAMAN e TURNER (1997), sem relato de intercorrências. Autores como COSENTINO et al.(1986) e, PAKIZ et al. (1990) utilizaram na dosagem de 24mg/kg; COSTABILE et al.(1994), relatam doses de 30 à 40 mg/kg e, GREENSTEIN et al.(1992), utilizaram 25 mg/kg de Pentobarbital Sódico. Observou-se a praticidade da técnica e a facilidade de obtenção de níveis anestésicos. Ressalta-se que a complementação anestésica com 50% da dose (25mg/kg) ao final de duas horas de torção, se mostrou necessária no grupo com 4 horas de torção, para manter o plano anestésico. Não observou-se este relato nos trabalhos pesquisados, com tempo similar de torção. Algumas alternativas anestésicas observadas na literatura consistiram na utilização inalatória de Éter, descrita por RALITCHKOVA et al.(1990); e inalatória com metoxifluorano a 0,5%, descrita por BAKER e TURNER (1995). Observou-se também a utilização intraperitoneal de Ketamina na dose de 30mg/kg, relatada por AKGÜR et al. (1993); e na dose de 50mg/kg conforme descrito por ULMAN et al. (1996).

5.3 TÉCNICA OPERATÓRIA

A torção de 720 graus do cordão espermático em ratos foi descrita por LUDWIG, HASELBERG e MÜNZENMAIER (1979), como equivalente a torção testicular completa em humanos, passando a ser observada como padrão nos estudos analisados. Como exceção observou-se o estudo de RALICHTOVA et al.(1990); que comparou as alterações teciduais conseqüentes a ligadura completa com as decorrentes da torção de 360 graus do cordão espermático.

A fixação testicular à bolsa escrotal foi observada nos experimentos que procuravam demonstrar alterações a longo prazo, sendo necessária a reoperação dos animais após intervalos determinados de tempo como descrito por SADE et al.(1988) e RYAN et al.(1988).

5.4 ALTERAÇÕES DO INTERSTÍCIO, EDEMA E CONGESTÃO VASCULAR

Os achados de edema e congestão vascular são esperados quando ocorre a obstrução do fluxo sanguíneo. Os resultados obtidos nos diversos períodos de torção do cordão espermático demonstraram a progressão da congestão vascular e do edema com o estabelecimento de períodos progressivos de isquemia de 1, 2 e 4 horas; como pode ser observado nas Tabelas 9 e 10 e, nos Gráficos I e II.

Estes achados encontram respaldo nos trabalhos de LUDWIG, HASELBERG e MÜNZENMAIER (1979), que observaram a instalação de edema após a primeira hora de torção e relataram a vasodilatação e hiperemia como presentes também após este período. COSENTINO et al.(1986), descreveram a evolução do edema até a quarta hora, estabilizando-se a partir deste período e demonstraram que as alterações hemorrágicas aparecem após a primeira hora de torção e estabilizam após a sexta hora. RALICHTOVA et al.(1990), descrevem que no decorrer das primeiras 4 horas de torção, as alterações de interstício encontradas eram conseqüentes a dilatação vascular. Observaram a presença de edema, congestão vascular e hemorragia.

5.5 ALTERAÇÕES DAS CÉLULAS DA LINHAGEM GERMINATIVA

A positividade de alterações foi caracterizada pela alteração de um ou mais dos parâmetros descritos (Tabela 2). Observou-se que as alterações

histológicas das células da linhagem germinativa não foram evidenciadas na primeira hora de torção do cordão espermático, contrariamente ao descrito por LUDWIG, HASELBERG e MÜNZENMAIER (1979), que observaram alterações degenerativas de células germinativas com 1 hora de torção.

A partir da segunda hora de torção quando demonstrou-se desarranjo da arquitetura celular, constatou-se o início dos danos celulares. Com 4 horas de torção a maior incidência continuou sendo o desarranjo da arquitetura celular, porém já ocorreram alterações na população de espermatozoides, e degeneração celular. (Tabela 11). A presença evolutiva das alterações das células germinativas pode ser observada no Gráfico III.

Estes achados coincidem com a literatura, visto a descrição de COSENTINO et al.(1986), que analisando 12 parâmetros histológicos observaram que o desarranjo das células germinativas, a morte dos espermatozoides e espermátides e a degeneração celular são dependentes do tempo de torção e embora acontecendo após a primeira hora de torção do cordão espermático, atingem seu escore maior a partir da terceira hora.

RALICHTOVA et al.(1990), relataram que no decorrer das primeiras quatro horas de torção foram observadas a progressiva desorganização dos elementos celulares, sendo que os fenômenos necróticos somente foram evidenciados a partir do período de 4 horas, sendo estes achados similares aos encontrados no presente estudo.

A perda da arquitetura celular e a diminuição das células da linhagem germinativa, correlacionada com torção de 2 horas do cordão espermático foi relatada por SABA et al. (1997), entretanto no presente estudo a diminuição das células da linhagem germinativa somente foi observada com 4 horas de torção do cordão espermático, sendo coincidente a perda da arquitetura celular que observou-se com 2 horas de torção.

5.6 CONSIDERAÇÕES GERAIS

As variações do dano histológico encontrados nos mesmos períodos de torção em todos os grupos analisados (Tabelas 3, 5, 6, 7 e 8), foi coerente com o relatado na literatura. COSTABILE et al. (1994), utilizando exames de Ressonância Nuclear Magnética, comprovaram que mesmo com a torção de 720 graus, o fluxo sanguíneo mostrou-se variável no grupo de animais analisado, obtendo ausência completa de fluxo em apenas 20% dos animais.

Conclusões

6

CONCLUSÕES

Concluiu-se com o presente experimento científico que:

1. As alterações histológicas decorrentes da torção do cordão espermático em ratos, são dependentes do tempo de torção.
2. O interstício apresenta alterações já na primeira hora de torção, caracterizadas pela presença de edema e congestão vascular, que apresentam características evolutivas, piorando com o decorrer do tempo de torção.
3. As células germinativas apresentam alterações histológicas a partir da segunda hora de torção, caracterizadas pelo desarranjo celular. Estas alterações tornam-se evidentes na quarta hora, quando observou-se desarranjo celular, redução da população de células germinativas e alterações celulares degenerativas.

Referências Bibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AKGÜR, F. M.; KILIN, K.; AKTUG, T. Reperfusion injury after torsion of unilateral testicular torsion. **Urological Research**, v. 21, n. 6, p. 395-399, 1993.
 2. AKGÜR, F. M.; KILINÇ, K.; ARTUG, T.; OLGUNER, M. The effect of allopurinol pretreatment before detorting testicular torsion. **The Journal of Urology**, v. 151, p. 1715-1717, Jun, 1994.
 3. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Apresentação de citações em documentos**, NBR 10.520, Rio de Janeiro, 1988.
 4. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Referências bibliográficas**, NBR 6023. Rio de Janeiro, 1989.
 5. BAKER, L. A.; TURNER, T. T. Leydig cell function after experimental testicular torsion despite loss of spermatogenesis. **Journal of Andrology**, v. 16, n. 1, p. 12-17, Jan./Fev. 1995.
 6. BECKER, E. J.; PRILLAMAN, H.M.; TURNER, T.T. Microvascular blood flow is altered after repair of testicular torsion in the rat. **The Journal of Urology**, v. 157, n. 4, p. 1493-1498, Abr. 1997.
 7. BLANK, M. L.; O'NEILL, P.J.; STEIGMAN, C.K.; COBB, L.M.; WILDE, R. A.; HAVENSTEIN, P. J.; CHAUDRY, I.H. Reperfusion injury following testicular torsion and detorsion in prepuberal rats. **Urological Research**. v. 21, n. 6, p. 389-393, 1993.
 8. BRASSO, K.; ANDERSEN, L.; KAY, L.; WILLE-JORGENSEN, P.; EGENSE, J. Testicular torsion: a folow-up study. **Scandinavian Journal Urology and Nephrology**, v. 27, n. 1, p. 1-6, 1993
 9. BURGHER, S. W. Acute scrotal pain. In: **Emergency Medicine Clinics of North America**, W. B. Saunders Company, Nov. 1998, v. 16, n. 4, p. 781-809.
 10. CHOI, H.; CHOO, M.S.; KIM, K.M.; KIM, W.H.; LEE, Y.S.; CHUNG, M.H. The alterations of cellular metabolism in the contralateral testis following spermatic cord torsion in rats. **The Journal of Urology**, v. 150, n. 2 – pt. 2, p. 577-580, 1993.
 11. COBEA - COLÉGIO BRASILEIRO DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL. Legislação e Ética. <http://www.meusite.com.br/COBEA/etica>, 2000.
-

- 12.COMITÉ INTERNACIONAL DE NOMENCLATURA ANATÔMICA VETERINÁRIA, **Nomina Anatômica Veterinária**, 3. ed., Ed. Aedos, Madri, 1983.
 - 13.COSENTINO, M. J.; NISHIDA, M.; RABINOWITZ, R.; COCKETT, A. T. K. Histopathology of prepuberal rat testes subjected to various durations of spermatic cord torsion. **Journal of Andrology**, v. 7, p. 23-31, jan./fev. 1986.
 - 14.COSTABILE, R. A.; CHOYKE, P. L.; FRNAK, J. A.; GIRTON, M. E.; DIGGS, R.; BILLUPS, K. L.; DESJARDINS, C. Variability of ischemia during spermatic cord torsion in the rat. **The Journal of Urology**, v. 151, p. 1070-1072, Abr. 1994.
 - 15.EROL, D; GERMIYANOGLU, C; BULUT, G; OZKARDES, H; KURT, U. Diagnostic value of creatine phosphokinase in testicular torsion. **International Urology and Nephrology**, – v. 24 n. 2, p. 201-4, 1992
 - 16.GREENSTEIN, A.; SMITH-HARRISON L. I.; WAKELY, P. E.; KOLOLGI, S.; SALZBERG, A. D.; KOONTZ JR, W.W. The effect of polyethylene glycol superoxide dismutase administration on histological damage following spermatic cord torsion. **The Journal of Urology**, v. 148, n. 2 – pt. 2, p. 639-641, 1992.
 - 17.KALLERHOFF, M.; GROSS, A. J.; BOTEFUR, I.C.; ZOLLER, G.; WEIDNER, W.; HOLSTEIN, A. F.; RINGERT, R. H. The influence of temperatura on changes in pH, lactate and morphology during testicular ischaemia. **British Journal of Urology**, v. 78, n. 3, p. 440-445, 1996.
 - 18.KRARUP, T. The Testes After Torsion. **British Journal of Urology**, v. 50, n. 1, p. 43-46, 1978.
 - 19.LUDWIG, G.; HASELBERGER, J.; MÜNZENMAIER, R. Early changes of Testicular Tissue Following Experimental Torsion of the Spermatic Cord. **Urologe A**, v. 18, n. 5, p. 294-297, 1979.
 - 20.LUDWIG, G.; HASELBERGER, J.; MÜNZENMAIER, R. Late Changes of the Testicular Tissue in Experimental Torsion of the Spermatic cord. **Urologe A**, v. 18, n. 6, p. 350-354, 1979.
 - 21.MALOSSINI, G.; CURTI, P.; COMUNALE, L.; BINACHI, G.; BALDASSARE, R.; CARLUCCIO, G.; POLETTI, G. Torsión del cordón espermático. **Archivos Españoles de Urologia**, v. 45, n. 1, p. 5-10, 1992.
 - 22.NOSKE, H. D.; KRAUS, S. W.; ALTINKILIC, B.M. WEIDNER, W. Historical milestones regarding torsion of the scrotal organs. **The Journal of Urology**, v. 159, n. 1, p. 13-16, Jan. 1998.
-

-
23. ORTIZ, V. e ARAÚJO, E.J. La torsión del cordón espermático en ratas prepuberales y sus efectos seminales en el testículo contralateral. **Revista de Cirugía Infantil**, v. 8, n. 4, p. 202-208, Dez. 1998.
24. ORTIZ, V.; SILVA, L. A.; OSAKI, L. T.; AURIEMO, C. Alterações enzimáticas na torção do cordão espermático: estudo experimental no cão. **Jornal Brasileiro de Urologia**, v. 14, n. 1, p. 13-15, jan/mar, 1988.
25. PAKIZ, R.E.; HEINDEL, R.M.; KALLISH, M.; COSENTINO, M. J. Spermatic Cord Torsion: Effects of cyclosporine and prednisone on fertility and the contralateral testis in the rat. **Journal of Andrology**, v. 11, n. 5, p. 401-408, set./out. 1990.
26. PASSIA D.; IBACH B.; HILSCHER B. Experimental Torsion of the Spermatic Cord. Histological and Histochemical Studies, **Urologe A**, v. 19, n. 5, p. 296-302, 1980.
27. PRILLAMAN, H.M., TURNER T. T. Rescue of testicular function after acute experimental torsion.. **The Journal of Urology**, v. 157, p. 340-345, Jan, 1997.
28. RALITCHKOVA, L.; NANOV, Z.; GOTCHEV, D.; HINEV, A.; LIBALD, T.; WOLNIK, R. Experimental testicular torsion – early and the late morphological and enzymohistochemical changes. **Zeischrift für Experimentelle Chirurgie, Transplantation und Künstliche Organe**, v. 23, n. 3, p. 185-188, 1990.
29. RYAN, P. C.; WHELAN, C. A.; GAFFNEY, E.F.; FITZPATRICK, J. M. The effect of unilateral testicular torsion on spermatogenesis and fertility. **British Journal of Urology**, v. 62, n. 4, p. 359-366, 1988.
30. SABA, M.; MORALES, C.R.; DE LAMIRANDE, E.; GAGNON, C. Morphological and biochemical changes followings acute unilateral testicular torsion in prepuberal rats. **The Journal of Urology**, v. 157, n. 3, p. 1149-1154, Mar. 1997.
31. SADE, M.; AMATO, S.; BUYUKSU, C.; MERTAN, S.; CANDIA, M. S.; KAPLANOGLU, N. The effect of testicular torsion on the contralateral testis and the value of various types of treatment. **British Journal of Urology**, v. 62, n. 1, p. 69-71, 1988.
32. SAKAI, A. T.; SROUGI, M. Fertilidade após torção unilateral do cordão espermático: estudo experimental em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 7, n. 1, p. 25-27, 1992.
-

-
33. SARICA, K.; BAKIR, K.; YAGCI, F.; ERBAGCI, A.; TOPCU, O.; UYSAL, O. Unilateral testicular torsion: protective effect of verapamil on contralateral testicular histology. **International Journal of Urology**, v. 62, n. 3, p. 159-163, 1999.
34. ULMAN, I.; SAKALLI, U.; AVANOGLU, A.; CLEIK, A.; ULMAN, C.; FADIOGLU, M.; GÖKDEMİR, A. Serum creatine kinase enzyme levels in the early diagnosis of spermatic cord torsion. **Urological Research**, v. 24, n. 6, p. 329-331, 1996.
35. UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. Biblioteca Central. **Normas para apresentação de trabalhos**, 6ª ed. Curitiba: Ed. da UFPR, 1996. 8v.
36. WRIGHT, J. E. Torsion of the testis. **British Journal of Surgery**, v. 64, n. 4, p. 274-276, 1977.
-